

CN1092174
ABSTRACT

Zhang et al. in CN1092174 disclosed an accelerator for enzyme-labeled immunosorbent assay (ELISA) wherein plastic plates are loaded with antigen and antibody and placed on copper plates which are connected to a high frequency vibrator. The vibrator transformed alternative current in 220 volts potential to a high frequency electric field which vibrated the antigen and antibody in a high speed and completed the reaction in several minutes. The high speed electric field could not be applied in hybridization since the hybridization of nucleic acids was a process for combinations of at least ten complementary alkalinic groups in two single strained nucleic acids. The hybridization reaction required a certain extention of time while high frequency vibration would disrupt the reaction. Furthermore, high frequency vibration neither mixed nucleic acids well nor concentrated the nucleic acids. The hybridization efficiency was low. The reaction specificity was low since high frequency vibration did not exclude mismatched hybridization.

[19]中华人民共和国专利局

[11]公开号 CN 1092174A



[12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 93112362.3

[43]公开日 1994年9月14日

[51]Int.Cl⁵

G01N 33/53

[22]申请日 93.3.11

[71]申请人 上海长海医院

地址 200433上海市长海路174号

[72]发明人 张乐之 张永生 龚燕芳

[74]专利代理机构 中国人民解放军第二军医大学专利事务所
代理人 丁振英

说明书页数: 附图页数:

[54]发明名称 酶联免疫吸附试验加速仪

[57]摘要

本发明是一种通过高频电场作用加速酶联免疫吸附试验(ELISA)反应的方法及其仪器。仪器由高频振荡装置和通过电缆线与之相联接的有机玻璃试验盒组成，使用时将包被抗体或抗原的酶标板置于试验盒中的工作电容之间，在高频电场作用下，使抗体抗原在数分钟内即发生特异性结合，能极大地提高工作效率，缩短实验周期或研究进程。本发明可广泛用于传染病学、免疫学、寄生虫学、细菌学、病毒学、血液学、肿瘤学、兽医学及植物学等领域的ELISA检测中。

(BJ)第1456号

权利要求书

1、一种酶联免疫吸附试验加速方法，其特征在于包括如下步骤：

(1)、将 220V 交流电经过高频振荡器转变为高频电场，高频输出功率约 40 瓦，将待测酶标板置于高频电场中，使酶标板内的抗原或抗体以 $40.68\pm5\%$ 兆赫的频率往返振动，在数分钟内完成反应；

(2)、用缓冲液洗板，再加底物液显色，硫酸中止反应，判断结果。

2、一种酶联免疫吸附试验加速仪，由用于产生高频电流的高频振荡装置和用于待测样本的酶标板反应的试验盒构成，其特征在于该试验盒设置有由两块铜电极板组成的工作电容，高频振荡装置的高频电流输出端通过两根电缆线分别与试验盒内的两块铜电极板连接，以便在试验盒内产生高频电场，该高频振荡装置的高频输出功率约 40 瓦，输出频率为 $40.68\pm5\%$ 兆赫。

3、根据权利要求 2 的酶联免疫吸附试验加速仪，其特征在于输出功率通过开关 (7) 分四档可调。

4、根据权利要求 2 的酶联免疫吸附试验加速仪，其特征在于反应试验盒的工作电容 (25) 由二块面积为 308×203 毫米，厚度为 0.2 — 0.6 毫米的铜板电极组成，铜板电极分别夹在与之面积相等的塑料板中，工作电容 (25) 之间的距离在 60—180 毫米内可调。

5、根据权利要求 4 的酶联免疫吸附试验加速仪，其特征在于反应试验盒 (29) 由厚度为 4—7 毫米有机玻璃制成。

说 明 书

酶联免疫吸附试验加速仪

本发明属医疗检测技术领域，是一种酶联免疫吸附试验加速装置。

酶联免疫吸附试验(Enzyme Linked immunosorbent assay, ELISA)于1971年由Engvall等及Van Weemen等分别建立，近年来在传染病学、免疫学、寄生虫学、细菌学、病毒学、肿瘤学、兽医学及植物学等分子生物研究领域中得到广泛应用，是目前发展最为迅速的具有高灵敏度而又特异的检测方法。ELISA分为间接法、竞争法和双抗体夹心法等三类，常规操作基本过程为：第一步，将抗原(或抗体)包被于固相载体(如聚苯乙烯塑料酶标板)上，放4℃冰箱过夜，此步一般由试剂盒提供者完成。第二步，用缓冲液洗包被板三次，加待测标本后放37℃水箱(或室温)反应1—2.5小时。第三步，用缓冲液洗板三次，加酶标抗体后置37℃水箱(或室温)反应1—2.5小时。第四步，缓冲液洗板三次，加底物液显色，硫酸中止反应，判断结果。以上第二步及第三步的反应时间合计为2—5小时，试验时间显然太长，这对诸如大批量测定乙型肝炎标记物“三抗”等试验带来不便。目前解决这一问题的办法：一是将水箱温度提高，以缩短抗原抗体反应时间，但温度过高会影响酶的活性。二是将第二步及第三步操作合并，变为一步法，需要45—60分钟，时间还是太长。

本发明的目的在于提供一种既能缩短检测时间，又能保持酶的活性的酶联免疫吸附试验加速方法与装置。

本发明提出的酶联免疫吸附试验加速方法是将通常的操作步骤中最为费时的第二、第三个步骤加以改进。发明人经研究发现，包被抗体或抗原的酶标板，在高频电场作用下，会很快发生特异性结合，完成反应。据此，本发明提出如下加速试验步骤：1、将220V的交流电经过高频振荡器产生高频电场，将待测酶标板置于高频电场中，使酶标板内抗原抗体以 $40.68\pm5\%$ 兆赫的频率往返振动，在数分钟内即完成反应；2、用缓冲液洗板，再加底物液显色，硫酸中止反应，判断结果。本发明提出的方法大大缩短了试验反应时间(只需几分钟)，而且不会因升温使

待测样本中的抗原或抗体变性失活(当输出功率约40瓦时，酶标板置高频电场中作用20分钟，待测样本只升温0.5—1℃)。

对应于上述酶联免疫吸附试验加速方法，本发明还设计了加速反应装置。该装置包括两个部分：高频振荡装置和反应试验盒，其中高频振荡装置用于产生高频电流，反应试验盒用于待测样本的酶标板的试验反应。试验盒内设置有两块铜电极板组成的工作电容，待测样本的酶标板置于工作电容之上，高频振荡装置产生的高频电流的输出端通过两根电缆线分别与试验盒内的两块铜电极板连接，以便在试验盒内产生高频电场。

以下将结合附图对本发明作进一步的详细描述。

图1是本发明电路图。

图2是本发明立体图。

参照图1，本设计电源部分：电源变压器次级线圈1与由四枚硅二极管组成的桥式整流电路2连接，提供直流高压。电源变压器次级线圈3两端接高频旁路电容器4后接电源指示灯5，再接振荡管灯丝6。电源开关与输出调节开关合在一起，使用一只单刀六掷开关7，开关7置第一位是“关”；开关7在第二位时，电源变压器初级线圈8经保险丝9接上220V交流电，电源指示灯5和振荡管灯丝6亮，此时尽管高压已经形成，但直流通路未接通，振荡电路无电源供给，因而无振荡，无输出；开关7在第三位时，整流电路2高压直流负极经地再至振荡管阴极10。整流电路2高压直流正极端与并接旁路电容器11的毫安电流表12联接，经高频扼流圈13至振荡线圈14中点，振荡线圈14两端分别接二个振荡管屏极15，二个振荡管帘栅极16各接有一个高频旁路电容器17，整流电路2高压直流正极端另一通路经降压电阻18、调节振荡管帘栅极16电压，以实现输出功率的调整(最大输出功率约40瓦)。本设计振荡电路：由振荡线圈14、帘栅极回输线圈19及二只FU-7振荡管20组成，是电感耦合调屏推挽振荡电路。电路中没有专门的电容器，而是以线间分布电容以及振荡管20极间电容为振荡电路电容，并依靠振荡管帘栅极21上高频振荡电流流经电阻22形成的栅偏压来稳定振荡。本设计输出部分：采用电感耦合式。耦合线圈23、调谐电容器24及二块铜板组成的工作电容25联接，形成并联谐振回路。若在工作电容25之间放置待测酶标板，调节调谐电容器24，使并联谐振频率等于振荡频率($40.68\pm5%$ 兆赫)，这时电路达到谐振点，与电阻26联接的氖灯27最亮，毫安电流表12指示最大值，整个仪器处于最佳工作状态。

参照图2，开关7、电源指示灯5、毫安电流表12、氘灯21及调谐电容器24固定在高频振荡装置28机壳面板上。工作电容25由二块面积为 308×203 毫米，厚度为0.2—0.6毫米的铜板电极组成，铜板电极分别夹在与之面积相等的塑料板中，再固定在试验盒29中，工作电容25之间的距离在60—180毫米内可调。试验盒29可采用厚度为4—7毫米茶色有机玻璃制成。两根输出电缆线30长度要求一致，并分别插入输出插孔31及输入插孔32中，同时应注意将二根电缆线30分开，以免输出短路。图1中其余元件装在高频振荡装置28机壳内线路板上。

实验时，将开关7置第二位，仪器预热2—5分钟，同时插好输出电缆线30，将待测酶标板放在下面一块铜板工作电容25塑料板上。开关7从第三位开始为四档输出功率调节开关。实验者可根据不同的ELISA检测项目或试剂盒选择输出强度，确定最适反应时间(一般不超过5分钟)。反应毕，开关7拨回第二位，仪器回到预热状态，等待下次测定时再置输出档位。

本设计的积极效果在于：ELISA常规操作法是将待测酶标板置37℃水箱，依靠样本中抗原抗体带电分子之间的自由运动进行结合，因而反应时间慢。本设计用ELISA加速仪取代水箱，待测酶标板置试验盒29中，依靠高频电场的作用，使样本中抗原抗体带电分子以每秒40.68兆赫的频率振动，因而抗原抗体能在很短的时间内结合。ELISA加速仪结构简单，造价不比水箱高，而且操作非常方便，应用它，可以极大地提高工作效率。尤其在医院应用ELISA加速仪，对检验科，可缩短实验周期，以利于开展新的检验项目，对病人，可尽早获得检验结果，有利于快速诊断和治疗。

说 明 书 附 图

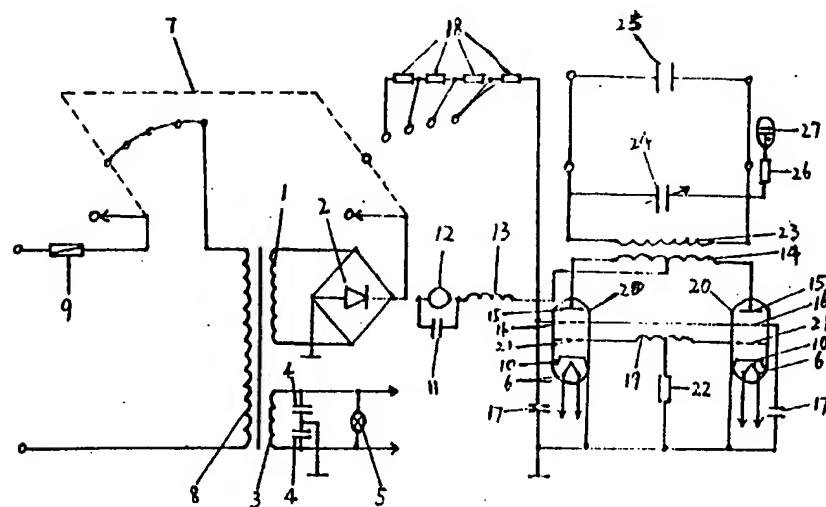


图 1

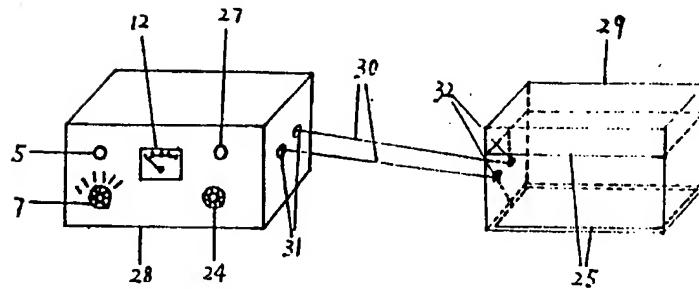


图 2